

PREDICTION DE LA TENEUR EN LIPIDES DES MAGRETS DE CANARD PAR SPECTROMETRIE DANS LE PROCHE INFRAROUGE (SPIR)

Bastianelli D.¹, Bonnal L.¹, Chartrin P.², Bernadet Marie-Dominique³, Marie-Etancelin Christel⁴, Baéza Elisabeth²

¹CIRAD Laboratoire d'alimentation Animale, Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 05, France

²INRA, UR 83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

³INRA, UE 89, Unité Expérimentale des Palmipèdes à Foie Gras, Artiguères, F-40280 Benquet, France

⁴UPR631 SAGA, INRA, 31326 CASTANET-TOLOSAN, France

Résumé

Dans le cadre d'un projet nécessitant un nombre important de mesures de teneurs en lipides et en eau dans le magret de canard, la spectrométrie dans le proche infrarouge (SPIR) a été évaluée dans le but d'alléger la charge analytique très lourde des méthodes de référence. Trois modes d'acquisition spectrale ont été testés: prise de spectre directe pendant le chantier d'abattage (spectro. ASD Labspec Pro) ou au laboratoire (spectro. FOSS NIRSystem) sur magret broyé ou présenté en rondelles. Les calibrations établies sur magret broyé ont été les meilleures. Le SECV (Erreur standard de validation croisée) était de 0,31% pour les lipides et 0,57% pour l'eau, la répétabilité des mesures de référence étant de 0,23% et 0,30% respectivement. Les mesures obtenues sur des rondelles ont été moins précises (Lipides : SECV=0,51% ; Eau : SECV=0,73%). Les mesures effectuées lors du chantier d'abattage ont également permis de moins bonnes calibrations (Lipides : SECV=0,48% ; Eau : SECV=0,64%). Il est conclu que la prédiction par SPIR de la teneur en lipides et en eau constitue une mesure satisfaisante, notamment si elle est réalisée au laboratoire sur du magret broyé. Des mesures directes, moins précises, permettent néanmoins une première estimation valable de la composition.

Introduction

La mesure de la composition de la viande est nécessaire autant pour des contrôles de qualité dans les industries agro-alimentaires que dans le cadre d'expérimentations scientifiques touchant par exemple à l'alimentation ou à la génétique.

Les mesures les plus communes concernent la teneur en eau, lipides, protéines et parfois des constituants plus spécifiques comme les acides gras.

Ces mesures ne sont pas compliquées à mettre en œuvre, mais demandent souvent un temps de travail important, occasionnant des délais dans l'obtention des résultats et des coûts de main d'œuvre élevés. Par exemple la méthode d'extraction des lipides dans la viande (Folch *et al.*, 1957) ne permet la mesure que de quelques échantillons par jour. Si le nombre d'échantillons à traiter est très élevé le travail devient très lourd voire irréalisable.

La spectrométrie dans le proche infrarouge (SPIR) est une technique analytique basée sur l'absorption de lumière ($\lambda=800-2500\text{nm}$) par la matière organique. Le niveau d'absorption est lié à la nature et à la quantité des liaisons chimiques, et donc à la composition chimique du produit. Après un étalonnage de l'appareil, la mesure est simple et rapide, autorisant la prédiction de la composition de centaines d'échantillons à faible coût. Une mesure « en ligne » de la technique est envisageable dans

les industries agroalimentaires. Cette technique a été testée pour évaluer la qualité de la viande

(Prevolnik *et al.*, 2004) dans plusieurs cas, y compris sur de la viande de poulet (Windham *et al.*, 2003) ou du foie gras de canard (Molette *et al.*, 2001).

La présente étude a été réalisée dans le cadre d'un projet de recherche génétique sur le canard (GENECAN, Marie-Etancelin *et al.* 2008) dans lequel il était nécessaire de mesurer la composition de plus de 1500 échantillons de magret. Outre la génération de ces données, l'étude se propose de comparer plusieurs appareils et modalités de prise de spectres afin d'optimiser l'utilisation de la SPIR dans de futures applications.

Matériels et méthodes

Echantillons

Un total de 741 échantillons de magrets a été utilisé. Ces magrets provenaient de canards gavés à l'unité expérimentale INRA d'Artiguères (40) et ont été découpés lors des chantiers d'abattage du programme GENECAN en 2006. La peau a été enlevée des magrets. Une mesure spectrométrique a été effectuée directement après abattage puis sur chaque magret ont été prélevés une rondelle (découpée à l'emporte-pièce, diamètre 40 mm) et un échantillon de viande (environ 40 g dans la zone médiane) qui a été broyé et séparé en deux sous

échantillons identiques immédiatement congelés en vue d'analyses chimiques et spectrométriques ultérieures.

Mesures spectrométriques

Deux spectromètres ont été utilisés : un appareil de laboratoire FOSS NIRSystem 6500 (400-2500nm) avec module DCFA et un appareil portable ASD Labspec Pro (350-2500nm) avec module « contact probe ». Les mesures ont été faites en réflectance.

Trois types de mesures spectrométriques ont été réalisés

- Mesure sur magret entier avec le spectromètre ASD pendant le chantier de découpe (salle à 4°C). Pour chaque magret 8 spectres (4 points de mesure en double) ont été réalisés. Les points de mesure étaient localisés sur la face interne des magrets (et non du côté de la peau) et leur localisation était standardisée (haut, droite, bas, gauche de la face interne)
- Mesure avec spectromètre FOSS sur magret broyé conditionné dans des cellules en quartz. Chaque échantillon a été passé 3 fois (remplissages différents).
- Mesure avec spectromètre FOSS sur rondelles de magret insérées dans des cellules en quartz.

Analyses chimiques

Un sous ensemble de 130 échantillons a été sélectionné sur la base de sa représentativité spectrale de l'ensemble de la base mesurée sur spectromètre FOSS (sélection par les distances de Mahalanobis dans l'ACP). Des analyses de référence au laboratoire ont été effectuées sur ces 130 échantillons : teneur en lipides par extraction à froid au chloroforme-méthanol (Folch *et al.* 1957) et teneur en eau (étuve à 104°C jusqu'à poids constant). Une partie des échantillons a été passée en double afin de calculer la répétabilité des mesures de laboratoire.

Statistiques

Les données spectrales ont été traitées par le logiciel WINISI (Infrasoft Int., Port Matilda, (PA), USA).

Les longueurs d'onde visibles (400-800 nm) n'ont pas été utilisées pour ne pas rendre les modèles trop sensibles à d'éventuelles différences de couleur non dues à la composition. Les longueurs d'onde trop bruitées (>2200 nm pour ASD, >2450 nm pour FOSS) ont également été écartées. Le prétraitement mathématique des spectres a été déterminé pour optimiser les performances des modèles. On a utilisé un traitement des spectres en dérivée d'ordre 1, avec normalisation des spectres et lissage sur 10 points de mesure (procédure WINISI SNVD 1, 10, 5, 1).

Les équations de calibrations ont été établies par des régressions de type PLS (Partial Least Squares). Les performances des calibrations ont été décrites

par leur coefficient de détermination (R^2), et leur écart type résiduel de calibration (SEC) et de validation croisée (SECV). Le rapport RPD = $ET/SECV$ a été calculé comme critère synthétique de la qualité des modèles.

Résultats-Discussion

Mesures de laboratoire

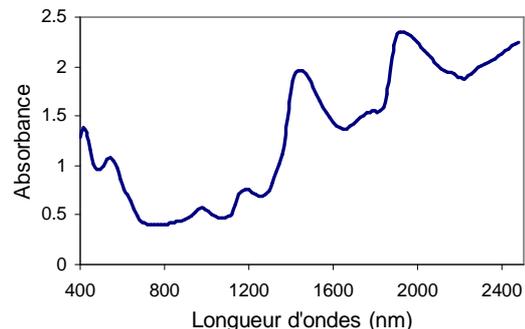
La répétabilité des mesures de référence a été estimée à $r = 0,23\%$ pour les lipides et $r = 0,30\%$ pour l'eau. Les valeurs moyennes et écart type des mesures a été de $5,1\% \pm 1,7$ pour les lipides et $71,7\% \pm 1,3$ pour l'eau.

Spectres

Les spectres acquis sur les deux spectromètres ont la même allure générale (Figure 1) ; ils sont très marqués par les bandes d'absorption de l'eau (980 nm, 1450 nm, 1950 nm).

Les bases de données sont assez cohérentes ; seulement 7 points (moins de 1% des spectres) sont éloignés de la base spectrale FOSS. En outre les valeurs spectrales extrêmes ne sont pas les mêmes sur les deux bases, ce qui suggère qu'elles sont dues à des artefacts lors de la prise de spectre et non à des échantillons intrinsèquement très atypiques.

FIGURE 1. Spectre moyen des magrets (FOSS)



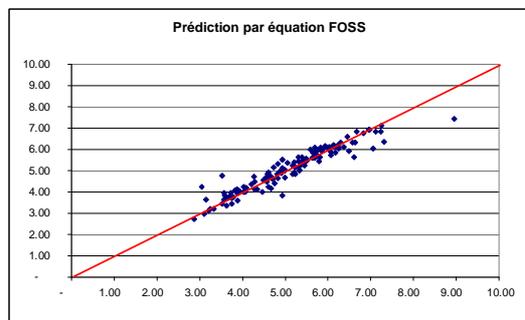
Calibrations FOSS sur échantillons broyés

La prédiction la plus précise de la teneur en lipides a été obtenue avec les spectres FOSS des échantillons broyés. Cela est logique dans la mesure où ces spectres ont été réalisés dans des conditions bien standardisées sur des échantillons homogènes et strictement équivalents à ceux qui ont été analysés par la méthode de référence.

Dans ces conditions, l'écart type résiduel de la calibration (SEC) a été de 0,25%, valeur que l'on peut comparer à la répétabilité au laboratoire (0,23%). La validation croisée (SECV) donne une erreur de 0,31%, qui est très acceptable pour ce type de mesure. Le SECV peut être considéré comme une mesure de la précision de la prédiction par SPIR. La Figure 2 illustre la relation entre les lipides prédits ou mesurés au laboratoire. Dans des conditions comparables aux nôtres, Cozzolino *et al.* (1996) avaient obtenu une valeur de SECV de 0,54% sur de la viande de poulet. Berzaghi *et al.*

(2005) avaient obtenu 0,24% mais avec un nombre d'échantillons restreint.

FIGURE 2. Prédiction de la teneur en lipides dans les échantillons broyés, sur la base de calibration FOSS



Pour la teneur en eau, le modèle obtenu avec le spectromètre FOSS avait un SEC = 0,51% et un SECV = 0,57%, donc moins de 2 fois plus élevés que la répétabilité au laboratoire. La relative faiblesse du RPD (2,3) était due à la faible variabilité existant au sein de la base de données. La précision de la mesure de teneur en eau est également limitée par la nature même des échantillons, puisque les mesures spectrales sont réalisées sur un échantillon décongelé, l'eau libre pouvant interférer avec les mesures SPIR.

TABLEAU 1. Equations de calibration de la teneur en lipides

	SEC	R ²	SECV	RPD
Spectromètre FOSS				
<i>Broyé</i>	0,25	0,94	0,31	3,3
<i>Rondelle</i>	0,43	0,84	0,51	2,1
Spectromètre ASD				
<i>Tous points</i>	0,44	0,84	0,48	2,3
<i>Point 1</i>	0,46	0,82	0,51	2,1
<i>Point 2</i>	0,50	0,77	0,56	1,9
<i>Point 3</i>	0,47	0,80	0,52	2,0
<i>Point 4</i>	0,41	0,86	0,48	2,3

TABLEAU 2. Equations de calibration de la teneur en eau

	SEC	R ²	SECV	RPD
Spectromètre FOSS				
<i>Broyé</i>	0,51	0,85	0,57	2,3
<i>Rondelle</i>	0,55	0,82	0,73	1,7
Spectromètre ASD				
<i>Tous points</i>	0,60	0,77	0,64	2,0
<i>Point 1</i>	0,67	0,74	0,72	1,8
<i>Point 2</i>	0,68	0,72	0,72	1,8
<i>Point 3</i>	0,67	0,73	0,71	1,8
<i>Point 4</i>	0,70	0,71	0,76	1,7

Ces performances de calibrations sont un peu supérieures à celles obtenues par Cozzolino *et al.*

(1996, 0,70%) et inférieures à celles de Berzaghi *et al.* (2005, 0,19% pour la MS) sur viande de poulet.

Autres modalités de prise de spectre

Les spectres réalisés sur des rondelles de magret non broyées, sur spectromètre FOSS ont donné des calibrations moins précises que les échantillons broyés. Le SECV est augmenté d'un facteur 1,6 pour les lipides et 1,3 pour l'eau, conduisant à des valeurs de RPD bien inférieures. Ce résultat est vraisemblablement dû au fait que la prise de spectre se fait sur une zone limitée tandis que l'analyse chimique est réalisée sur une portion bien plus grande et homogénéisée par le broyage. En outre, l'état de la surface de la rondelle (eau) interfère probablement avec la mesure spectrale. Cozzolino *et al.* (1996) avaient montré une dégradation encore plus forte des modèles de calibration avec des SECV passant de 0,54% à 0,90% pour les lipides et de 0,70% à 1,59% pour l'eau.

Les spectres réalisés lors du chantier d'abattage avec le spectromètre ASD ont donné des calibrations moins précises que celles réalisées au laboratoire. Le SECV obtenu pour les lipides est équivalent à celui des rondelles sur FOSS, c'est-à-dire dégradé d'un facteur 1,5 par rapport au broyat. Pour la teneur en eau les performances sont plus proches du FOSS, avec un rapport de 1,1 entre les SECV. Outre l'appareil différent, c'est surtout les conditions de prise de spectre, plus rustiques et sur produit non homogénéisé qui peuvent être incriminées. La moindre dégradation de la précision pour l'eau que pour les lipides peut s'expliquer par l'avantage à ne pas passer par une phase de congélation / décongélation.

La prise de spectre ASD ayant été faite sur 4 points bien définis de la face interne du magret, des calibrations ont été développées pour chaque point, afin de voir si un site de prise de spectre était plus favorable qu'un autre en routine. Les résultats présentés aux tableaux 1 et 2 montrent que ce n'est pas le cas, et que le spectre moyen des 8 points de mesures est toujours plus précis que l'un des points pris isolément. Il est donc plus intéressant de multiplier les prises de spectres pour couvrir l'ensemble du magret que de tenter de standardiser l'emplacement de mesure.

Eléments de validation

Pour une série de donnée unique, la validation croisée est un bon outil d'évaluation des calibrations. Une validation véritable nécessite de nouveaux échantillons extérieurs à la base de calibration, qui seront obtenus ultérieurement.

Dans le cas présent, quelques éléments permettent toutefois de juger de la pertinence des résultats produits. A partir des calibrations établies avec les 130 échantillons analysés au laboratoire, l'ensemble des 741 échantillons de l'expérimentation a été prédit. Il est intéressant de comparer les prédictions

obtenues avec les spectres FOSS et ASD. La corrélation entre ces deux prédictions n'est pas très élevée (0,75) car elle cumule les erreurs. Cependant il est remarquable que la pente soit proche de 1 et le biais faible, ce qui montre la cohérence des prédictions faites sur des types de prise de spectres bien distincts. Un autre élément de comparaison est la relation lipides – eau. La relation existant entre ces paramètres dans les données de référence est : $EAU_{labo} = 76,69 - 0,979 \times LIP_{labo}$ ($R^2 = 0.65$, $n = 130$).

Dans les données prédites la relation est quasiment identique :

$EAU_{SPIR} = 76,70 - 0,989 \times LIP_{SPIR}$ ($R^2 = 0.72$, $n = 741$), ce qui suggère que les données prédites respectent bien la logique biologique.

Conclusions

Ce travail a confirmé la faisabilité de la mesure par SPIR de la teneur en eau et en lipides dans le magret de canard. Il a précisé les conditions de la mise en œuvre de la technique, et montré la plus grande précision des mesures réalisées en laboratoire par rapport aux mesures sur produits frais à l'abattage. Toutefois, les mesures sur magret entier avec un appareil portable permettent des calibrations d'une précision acceptable. La prise de spectre avec l'appareil ASD étant rapide et ne demandant pas de préparation de l'échantillon, cette possibilité peut être intéressante pour des applications pratiques.

Les équations de prédiction produites ont permis de prédire la composition des 741 magrets de l'expérimentation GENECA. La seconde phase du projet produira encore environ 750 échantillons. La mesure de la composition de cette nouvelle série ne pourra pas être estimée directement par les présentes équations, établies sur une série unique de magrets, mais nécessitera une mise à jour des équations à l'aide d'un nombre réduit d'analyses de référence. A l'avenir les modèles de prédictions devraient progressivement devenir assez robustes pour ne plus nécessiter de mise à jour à chaque nouvelle série mais seulement des contrôles occasionnels.

Références bibliographiques

Berzaghi P., Dalle Zotte A., Jansson L.M., Andrighetto I., 2005. *Poult. Sci.* 84, 128-136.
Cozzolino D., Murray I., Paterson R., 1996. *J. Near Infrared Spectrosc.* 4, 213-223.
Folch J, Lees M., Stanley H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509.
Marie-Etancelin C., Baeza E., Basso B., Bastianelli D., Bernadet M.D., Brun J.M., Davail S., Dubos F.,

Fernandez X., Guemene D., Guy G., Larzul C., Mialon M.M., 2008. Dispositif de recherche QTL chez le canard (Programme GENECA) : description et premiers résultats. *8èmes Journées de la Recherche sur les Palmipèdes à Fois Gras*. 30-31 octobre 2008, Arcachon (France).

Molette C., Berzaghi P., Dalle Zotte A., Rémignon H., Babile R., 2001. *Poult. Sci.* 80, 1625-1629.

Prevolnik M., Candek-Potokar M., Skorjanc D., 2004. *Czech J. Anim. Sci.* 49, 500-510.

Windham W.R., Lawrence K.C., Feldner P.W., 2003. *J. Appl. Poult. Res.* 12, 69-73